黄荆精油对玉米象的杀虫活性成分、毒力及作用机制

卢传兵[1,2]，薛 明[1,*]，刘雨晴[1]，刘爱红[1]，王洪涛[1]
（1. 山东农业大学植物保护学院，山东泰安 271018； 2. 山东烟台市植保站，山东烟台 264001）

摘要：为明确黄荆精油及其主要成分作为储粮保护剂的开发利用价值，采用水蒸气蒸馏法从泰山黄荆 *Vitex negundo* Linn. 叶片中提取精油，利用 GC-MS 技术进行了成分分析鉴定，研究了黄荆精油及其主要成分桉树脑和 α-蒎烯对玉米象 *Sitophilus zeamais* Motschulsky 成虫的毒力及作用机制。结果表明：黄荆精油中含量大于 0.3% 的成分有 31 种，其中石竹烯、桉树脑和 α-蒎烯的含量分别为 35.97%，8.21% 和 0.69%。桉树脑、α-蒎烯和黄荆精油对玉米象成虫的综合杀虫毒力都较高，并以桉树脑的毒力最高，LC_{50} 为 0.7171 $g \cdot kg^{-1}$；在 2.0 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量下，桉树脑、α-蒎烯和黄荆精油对玉米象种群的抑制率分别达 100%，85.45% 和 89.73%；3 种药剂对玉米象 72 h 触杀 LC_{50} 分别为 0.2690，0.7529 和 0.2969 $mg \cdot cm^{-2}$，毒力都很高；3 种药剂在 4 $g \cdot kg^{-1}$ 剂量下，对玉米象的驱避率分别为 96.49%，84.26% 和 90.61%，防虫作用大；3 种药剂对玉米象 72 h 的熏蒸 LC_{50} 分别为 14.053，28.648 和 21.429 $\mu L \cdot L^{-1}$，熏蒸杀虫毒力较高，其中以桉树脑的毒力最高。3 种药剂对玉米象有干扰呼吸的作用，对离体乙酰胆碱酯酶、过氧化氢酶和羧酸酯酶都有抑制作用。这些结果明黄荆精油及其主要成分的作用机制具有多样性。

关键词：玉米象；黄荆；精油；桉树脑；α-蒎烯；毒力；杀虫机理
中图分类号：Q965.9　**文献标识码**：A　**文章编号**：0454-6296(2009)02-159-09

Insecticidal components and toxicity of *Vitex negundo* (Lamiales: Verbenaceae) essential oil to *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and their action mechanisms

LU Chuan-Bing[1,2], XUE Ming[1,*], LIU Yu-Qing[1], LIU Ai-Hong[1], WANG Hong-Tao[1] (1. College of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; 2. Plant Protection Station of Yantai, Yantai, Shandong 264001, China)

Abstract: To determine the development and utilization value of *Vitex negundo* Linn. as grain protectant, this study focused on the component analysis, toxicity, mode of action and action mechanism of essential oil of *V. negundo*, which was extracted using steam distillation. The GC-MS method was used to analyze the components of essential oil. The results showed that there were thirty-one components whose content was more than 0.3% in the essential oil of *V. negundo*. The main components were caryophyllene, eucalyptol and α-pinene, with contents of 35.97%, 8.21% and 0.69%, respectively. Eucalyptol, α-pinene and *V. negundo* essential oil all had high overall toxicity to the adults of *Sitophilus zeamais* in 72 h of treatment and the highest one was eucalyptol, whose LC_{50} was 0.7171 $g \cdot kg^{-1}$. They also could control F_1 population effectively. At the dosage of 2.0 $g \cdot kg^{-1}$, the inhibitory rates of eucalyptol, α-pinene and *V. negundo* essential oil to *S. zeamais* were 100%, 85.45% and 89.73%, respectively. The LC_{50} values of eucalyptol, α-pinene and essential oil of *V. negundo* to *S. zeamais* in the contact toxicity were 0.2690, 0.7529 and 0.2969 $mg \cdot cm^{-2}$, respectively; and at the dosage of 4 $g \cdot kg^{-1}$, they all exhibited distinctly repellent effects and the repellency rates were 96.49%, 84.26% and 90.61%, respectively. The LC_{50} values to *S. zeamais* were 14.053, 28.648 and 21.429 $\mu L \cdot L^{-1}$ fumigated by eucalyptol, α-pinene and essential oil of *V. negundo* for 72 h, respectively. They all showed high fumigation effects, of which eucalyptol had the highest one. The essential oil of *V. negundo*, and its main components eucalyptol and α-pinene all affected the breath of *S. zeamais*. The three samples distinctly inhibited the activities of AChE, CAT and CarE of *S.*

基金项目：山东省自然科学基金项目(Y2006D13)；山东省教育厅项目(J04C06)
作者简介：卢传兵，男，1980 年 2 月生，山东烟台人，硕士，主要从事害虫综合治理方向的研究，现在烟台市植保站工作，E-mail：chuanbinglu@sina.com
* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail：xueming@sdau.edu.cn
收稿日期 Received：2008-10-12；接受日期 Accepted：2008-12-16

zeamais in vitro. All the results suggest that the action mechanisms of essential oil and main components of *V. negundo* show the characteristics of diversity.

Key words: *Sitophilus zeamais*e; *Vitex negundo*; essential oil; eucalyptol; α-pinene; toxicity; action mechanism

植物精油也被称为植物挥发油,是从植物中提取的具有特征性气味的一类小分子挥发性物质。植物精油的用途十分广泛,目前已在医药、食品、烟酒和日用化学等领域中被研究和开发应用(王广要等, 2006)。在害虫防治方面,人们已对植物精油的杀虫活性、对害虫的引诱、忌避、拒食和毒杀等方面做了大量工作,并证明许多植物精油因其挥发性强、无残留、不污染粮食和环境,是开发储粮熏蒸剂和忌避剂难得的资源(徐汉虹等, 1993; Lee *et al*., 2001;徐汉虹, 2001;张海燕等, 2004)。

黄荆 *Vitex negundo* Linn. 属马鞭草科(Verbenaceae),牡荆属,在我国分布范围广,野生资源十分丰富。过去黄荆主要作为药用植物和抗氧化剂进行研究与开发(郑公铭等 ,1999; 吕源玲和王洪新, 2002)。我们通过前期的研究已发现黄荆的种子和叶片提取物对菜青虫 *Pieris rapae*、小菜蛾 *Plutella xylostella* 和蚜虫都有一定的毒杀活性,还对小菜蛾成虫产卵有明显的驱避活性(袁林等, 2004, 2006)。廖世纯等(2006)报道了黄荆种子和叶片提取物对斜纹夜蛾也有明显的杀虫活性,并且对菜青虫有较强的拒食作用。本文进一步研究分析了采自山东泰山的黄荆叶片精油对重要储粮害虫玉米象 *Sitophilus zeamais* 的杀虫活性成分、毒力及作用机制,为进一步开发和利用黄荆这一杀虫植物资源,开发绿色储粮防护剂提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

玉米象采自山东省泰安市郊面粉厂。将小麦在80℃烘箱中消毒 2 h,再调整含水量至 14% 左右,置于玻璃罐头瓶中作玉米象饲料,加盖带有 120 目铜纱网的塑料瓶盖,置于温度为 28 ± 1℃,相对湿度 75% ± 5%,光照 12L: 12D 的养虫室内连续饲养。在饲料中接入玉米象成虫后,7 d 后筛去成虫,使产于小麦上的卵孵化并继续饲养,待新一代成虫大量出现约 5 ~ 10 d 后,以成虫作为试虫。

1.2 供试植物

黄荆叶片采自泰山山坡,室内阴干。

1.3 试剂

黄荆精油,本实验室提取;α-蒎烯(α-pinene)≥96% 原油,上海诺泰化工有限公司;1,8-桉树脑(eucalyptol)≥99% 原油,上海晶纯试剂有限公司;肉桂油(cassia oil),江西省吉水药用油提炼厂。

1.4 成分提取

1.4.1 黄荆叶片精油的提取方法: 采用水蒸气蒸馏法提取,将黄荆叶粉和蒸馏水按 1∶3 装入 5 000 mL的烧瓶中,电热套加热,保持混合物充分沸腾 4 ~ 5 h,用精油收集器收集精油,并经无水硫酸钠脱水,放于棕色磨口试剂瓶中,置于 5℃ 冰箱中保存备用。

1.4.2 黄荆精油的成分分析: 将提取的黄荆精油委托中国医药大学检测中心,采用气-质联机(TRACE GC-MS,美国 Finnigan 公司)分析。色谱条件: 色谱柱 CP-SIL 8CB-MS (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm),以 3℃ · min^{-1} 从 40℃ 升到 280℃,保持 10 min,进样口温度 270℃,接口温度 280℃,汽化温度 290℃,载气为高纯氦气,分流比 1∶20,载气流量 1.0 μL · min^{-1},进样量 0.5 μL。质谱条件: 扫描质量范围 40 ~ 550 amu,离子源 EI 温度为 200℃,电子能量为 70 eV (陈振锋等, 1999)。定量方法: 用气相色谱面积归一法定量。通过计算机检索鉴定其成分。

1.5 黄荆精油主要成分对玉米象的毒力测定

1.5.1 对成虫的综合毒力和对种群的抑制作用: 采用饲料拌药法测定(徐汉虹等, 1993),称取经预处理的无虫小麦 90 g 放人 500 mL 三角瓶中,将药剂用丙酮分别稀释成 5 个系列浓度,其中黄荆精油和 α-蒎烯的浓度均为 200, 100, 50, 25 和 12.5 g · L^{-1};桉树脑的浓度为 100, 50, 25, 12.5 和 6.25 g · L^{-1};肉桂油的浓度为 50, 25, 12.5, 6.25 和 3.125 g · L^{-1};。每瓶加入药液 1.8 mL,以 60 r · min^{-1} 的速度人工混摇 10 min,使其与小麦充分混合,然后倒出晾至丙酮完全挥发。以丙酮处理的为对照。将处理后的 90 g 小麦分装于 3 个大试管(Φ3 cm × H20 cm)中,每试管接入玉米象成虫 20 头,用黑布封管口,置于温度为 28 ± 1℃,相对湿度 75% ±5% 的恒温养虫室内饲养。处理后 24, 48 和 72 h 分别检查活虫数,计算死亡率和校

正死亡率，用 DPS 统计软件求出毒力回归式和 LC_{50}。

处理后 15 d 将成虫筛去，保留卵。再经 35 d 检查新的一代成虫（F_1）数量，并按下列公式计算其繁殖抑制率。

繁殖抑制率 =（对照 F_1 代成虫数 - 处理 F_1 代成虫数）/对照 F_1 代成虫数 ×100%。

1.5.2 触杀作用：采用滤纸药膜法测定。将桉树脑和黄荆精油均稀释成 100, 50, 25, 12.5 和 6.25 $mg \cdot mL^{-1}$ 5 个浓度，α-蒎烯稀释成 500, 250, 125, 12.5 和 6.25 $mg \cdot mL^{-1}$ 5 个浓度。取 Φ9 cm 的定性滤纸，平放于用 3 根昆虫针支起的支架上，用微量移液器在滤纸上滴加 1 mL 稀释好的药液，待丙酮自然挥发后，将之平铺于 Φ9 cm 玻璃培养皿底部，在滤纸药膜上放置玻璃环（Φ8 cm × H20 cm），内壁用滑石粉处理，以防止试虫上爬。每玻璃环内接入羽化 5 ~ 10 d 的玉米象成虫 20 头，以丙酮处理作对照，重复 3 次。置于温度为 28 ± 1℃ 的养虫室中，处理后 24，48 和 72 h 检查活虫数，计算死亡率和校正死亡率，用 DPS 统计软件求出毒力回归式和 LC_{50}。

1.5.3 驱避作用：采用 Jilani 和 Saxena（1998）方法，拌药方法同综合毒力测定。先将每一处理的小麦等分成 3 份，再将 1 份处理与 1 份对照（丙酮处理）对称放于 Φ12 cm 培养皿底部的两侧。用滑石粉处理培养皿内壁，通过漏斗向培养皿中心部接入羽化 5 ~ 10 d 的试虫 20 头，使其自行向处理和对照的小麦间上扩散，重复 3 次。处理后的试虫放于 28 ± 1℃ 恒温养虫室内，上部用黑布覆盖。处理后 48 h 检查试虫在处理与对照小麦中的分布情况。按下公式计算驱避率：

驱避率 =（对照试虫数 - 处理试虫数）/对照试虫数 ×100%。

1.5.4 熏蒸作用：用 500 mL 三角瓶作容器，加盖软胶皮塞。以羽化后 5 ~ 10 d 的玉米象成虫为试虫，每 20 头装入一个小布袋中。将桉树脑和黄荆精油用丙酮稀释成浓度均为 100, 50, 25, 12.5 和 6.25 $\mu L \cdot L^{-1}$ 的药液，将 α-蒎烯稀释成浓度为 400, 200, 100, 50, 25 和 12.5 $\mu L \cdot L^{-1}$ 的药液。用微量进样器分别吸取药液 5 μL，滴加于 1 cm × 10 cm 滤纸片上，并迅速投入三角瓶中并将试虫袋悬挂在三角瓶中部，塞紧瓶口。以滴加丙酮的为对照，重复 12 次。置于温度为 28 ± 1℃ 的养虫室中，处理后 24，48 和 72 h 分别检查活虫数，每次检查 4 个重复。计算死亡率和校正死亡率，用 DPS 统计软件求出毒力回归式和 LC_{50}。

1.6 黄荆精油主要成分对玉米象呼吸影响的测定

采用沈卫德等（1989）方法并略加改进，以三角瓶熏蒸法处理试虫，利用便携式红外线 CO_2 分析仪测定单位时间内试虫呼吸量的变化。选取 20 头羽化后第 5 d 玉米象成虫放入 500 mL 三角瓶中，使每 20 头试虫呼吸量差保持在 5 mg/L 之内。分别用黄荆精油和单体 24 h 的 LC_{50} 剂量熏蒸处理试虫，以丙酮作对照，每处理重复 54 次。每隔 1 h 散气测定试虫在 3 min 内的呼吸量的变化，重复 3 次，取其平均值，连续测定至 24 h。测定温度 26 ± 2℃，绘制时间-呼吸量变化曲线，比较各处理的呼吸差异。

1.7 黄荆精油主要成分对玉米象相关酶活性测定

1.7.1 酶源的制备：取羽化后第 5 天玉米象成虫 50 头，称重后用 PBS（pH 7.0）漂洗 3 次，加入 2 mL PBS（pH 7.0），冰浴下用玻璃匀浆器匀浆，在 4℃ 以 3 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 15 min，取上清液。将重复制备的 3 个样品合并作为酶源。

1.7.2 离体酶抑制毒力测定：将黄荆精油、桉树脑和 α-蒎烯分别用丙酮稀释至 1% 浓度，再用 PBS（pH 7.0）稀释成系列浓度，在乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶和过氧化氢酶活性测定反应体系中分别加入 0.1，0.5 和 0.5 mL，以加入丙酮和 0.1 $mol \cdot L^{-1}$ 磷酸缓冲液（pH 7.0）混合液的作对照，按如上方法测定。乙酰胆碱酯酶（AChE）活性测定参照 Ellman 等（1961）方法；羧酸酯酶（CarE）活性测定参照 Van Asperen（1962）法，并将酶源用 0.1 $mol \cdot L^{-1}$ 磷酸缓冲液（pH 7.0）稀释 50 倍用于本项测定的酶源；过氧化氢酶（CAT）活性测定参考 Chance 和 Machly（1955）方法。每一样品均重复 3 次，取其平均值。根据抑制剂浓度和对应的抑制率计算 IC_{50}。

酶活力抑制率 =

$$\frac{\text{对照组酶活力} - \text{处理组酶活力}}{\text{对照组酶活力}} \times 100\%。$$

1.8 数据处理与分析

采用 DPS2007 版统计软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 黄荆精油的成分分析

黄荆精油的化学成分分析结果见图 1，从色谱图中可知，含量在 0.3% 以上的有 36 个峰，占总含量的 91.64%。其中已经质谱鉴定出 31 种成分，其中石竹烯（caryophyllene）35.97%，1，8-桉树脑

(eucalyptol) 8.21%，4,11,11-三甲基-8-亚甲基-双环[7.2.0]-4-十一烯(bicyclo[7.2.0]-undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8- methylene-)7.87%，α,α-4-三甲基-3-环已烯-1-甲醇(3-cyclohexene-1-methanol,α,α,4-trimethyl-)5.61%，β-水芹烯(β-phellandrene) 2.49%，斯巴醇(spathulenol) 2.28%，大牦牛儿烯(germacrene D) 2.00%，γ-榄香烯(γ-elemene) 1.99%，α-蒎烯(bicyclo[3.1.1]hept-2,ene,2,2,6-trimethyl)0.69%。黄荆精油中88.8%为萜烯类化合物。

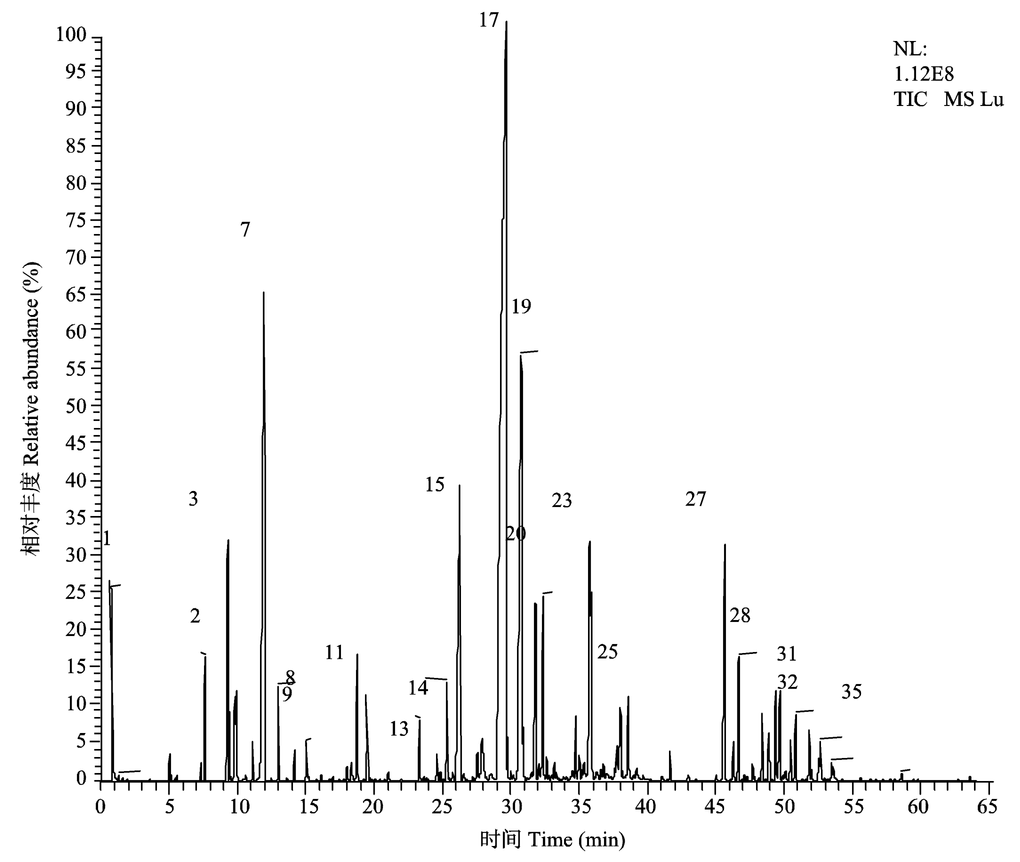


图 1 黄荆叶片精油气相色谱图

Fig. 1 The gas chromatogram of essential oil from *Vitex negundo* leaves

2.2 黄荆精油及其主要成分对玉米象的毒力

2.2.1 对成虫的综合杀虫毒力：黄荆精油及其主要成分分别处理玉米象成虫 24,48 和 72 h,黄荆精油的 LC_{50}分别为 3.2700, 1.8260 和 1.3327 g·kg^{-1};桉树脑的 LC_{50}分别为 1.7826, 1.3501 和 0.7171 g·kg^{-1},桉树脑的毒力明显大于黄荆精油;α-蒎烯的 LC_{50}分别为 4.3670, 2.6820 和 1.8783 g·kg^{-1},其毒力明显低于黄荆精油;肉桂油的 LC_{50}分别为 0.9655, 0.5688 和 0.4589 g·kg^{-1},其毒力明显大于黄荆精油及其主要成分。同时还可看出,每一药剂处理时间越长,其毒力越高(表 1)。肉桂油是从肉桂中提取出的植物精油,其中的主要杀虫活性成分是肉桂醛,已被证明是很具有开发潜力的优良的谷物保护剂(徐汉虹和赵善欢,1994)。本研究证明,黄荆精油及其主要成分桉树脑对玉米象成虫毒力虽略低于肉桂油,但我国的野生黄荆资源较肉桂更丰富,开发潜力很大。

2.2.2 黄荆精油及其主要成分对玉米象种群的抑制作用：黄荆精油及其主要成分对玉米象种群的控制作用见图 2,以 1.0 g·kg^{-1}剂量处理小麦,黄荆精油、桉树脑和肉桂油对玉米象种群抑制率均达 45%以上,显著大于 α-蒎烯的处理;在 2.0 g·kg^{-1}剂量下,桉树脑和肉桂油对玉米象种群的抑制率达 100%,黄荆精油和 α-蒎烯分别为 89.73% 和 85.45%;在 4.0 g·kg^{-1}剂量下,黄荆精油、桉树脑和肉桂油的抑制率均达 100%,α-蒎烯也达 90%以上。表明桉树脑和 α-蒎烯一样,处理小麦后对玉米象种群均有良好的抑制作用,都是黄荆精油中的主要杀虫活性成分。

2.2.3 对玉米象成虫的触杀毒力：黄荆精油、桉树脑和 α-蒎烯处理玉米象成虫 24, 48 和 72 h,黄荆精

油的 LC_{50} 分别为3.0556，0.6067和0.2969 mg·cm^{-2}，桉树脑的 LC_{50} 分别为 1.5656，0.5236 和 0.2690 mg·cm^{-2}，后者 3 个调查时间的触杀毒力均明显大于黄荆精油；α-蒎烯的 LC_{50} 分别为 5.2866，2.1944 和0.7529 mg·cm^{-2}，其3 个调查时间的触杀毒力均明显小于黄荆精油。各药剂也表现出处理时间越长，其毒力越高（表 2）。表明黄荆精油和桉树脑对玉米象成虫的触杀毒力较高。

2.2.4　对玉米象的驱避作用：黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯对玉米象均具有强烈的驱避作用，3 种药剂在0.5 g·kg^{-1}剂量下，对玉米象 48 h 驱避率分别为60.32%，72.06%和48.72%；在 4 g·kg^{-1}剂量下，驱避率分别为 90.61%，96.49% 和 84.26%。3 种药剂在相同观察时间下其毒力大小依次为桉树脑 > 黄荆精油 > α-蒎烯，同一药剂随着处理剂量增加而驱避率增大（图 3）。

2.2.5　对玉米象熏蒸毒力：黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯均具有较强的熏蒸作用，处理后 72 h，3 种药剂对玉米象的 LC_{50} 分别为 21.429，14.053 和 28.648 μL·L^{-1}，其中桉树脑的熏蒸毒力最高，是黄荆精油的 1.53 倍；α-蒎烯的毒力熏蒸最低，仅是黄荆精油的 0.74 倍（表 3）。且各药剂也表现为熏蒸时间越长，其毒力越高。

表 1　黄荆精油和两种主要成分对玉米象成虫的综合毒力

Table 1　Overall toxicity of the essential oil of *Vitex negundo* and its main components to *Sitophilus zeamais* adults

处理 Treatment	时间(h) Time	回归方程(y =) Regression equation	LC_{50}(95% confidence limit) (g·kg^{-1})	毒力倍数 Toxicity ratio
桉树脑 Eucalyptol	24	4.1263 + 3.4802x	1.7826 (1.3755 – 2.3102)	
	48	4.6633 + 2.5827x	1.3501 (1.1336 – 1.6079)	
	72	5.3761 + 2.6047x	0.7171 (0.4161 – 1.0522)	1.86
α-蒎烯 α-pinene	24	3.4073 + 2.4879x	4.3670 (3.6424 – 5.2358)	
	48	3.6989 + 3.0367x	2.6820 (2.3118 – 3.1114)	
	72	4.1296 + 3.1794x	1.8783 (1.7340 – 2.0503)	0.71
黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	24	3.0616 + 3.7672x	3.2700 (2.8331 – 3.8771)	
	48	4.1999 + 3.0596x	1.8260 (1.5754 – 2.1164)	
	72	4.6478 + 2.8239x	1.3327 (1.1359 – 1.5636)	1.00
肉桂油 Cassia oil	24	5.0455 + 2.9862x	0.9655 (0.6272 – 1.4617)	
	48	5.5874 + 2.3972x	0.5688 (0.4965 – 0.6407)	
	72	6.0776 + 3.1843x	0.4589 (0.3983 – 0.5288)	2.90

表 2　黄荆精油及其两种主要成分对玉米象成虫的触杀毒力

Table 2　Contact toxicity of the essential oil of *Vitex negundo* and its main components to *Sitophilus zeamais* adults

处理 Treatment	时间(h) Time	回归方程(y =) Regression equation	LC_{50}(95% confidence limit) (g·kg^{-1})	毒力倍数 Toxicity ratio
桉树脑 Eucalyptol	24	4.3923 + 3.1215x	1.5656 (1.4673 – 1.6778)	
	48	5.9373 + 3.3351x	0.5236 (0.2916 – 0.7467)	
	72	7.0883 + 3.6617x	0.2690 (0.1988 – 0.3382)	1.10
α-蒎烯 α-pinene	24	3.3662 + 2.2592x	5.2866 (4.9629 – 5.6545)	
	48	3.9917 + 2.9541x	2.1944 (2.0367 – 2.3809)	
	72	5.4092 + 3.3205x	0.7529 (0.7137 – 0.7928)	0.39
黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	24	3.8816 + 2.3055x	3.0556 (2.5615 – 3.7959)	
	48	5.7334 + 3.3798x	0.6067 (0.3346 – 0.8811)	
	72	6.5048 + 2.8534x	0.2969 (0.2334 – 0.3593)	1.00

表 3　黄荆精油及其两种主要成分对玉米象成虫的熏蒸毒力

Table 3　Fumigation effects of *Vitex negundo* essential oil and its main components on *Sitophils zeamais* adults

处理 Treatment	时间(h) Time	回归方程($y=$) Regression equation	LC_{50}(95% confidence limit) ($g \cdot kg^{-1}$)	毒力倍数 Toxicity ratio
桉树脑 Eucalyptol	24	$0.9570+2.5249x$	39.926 (31.330–52.664)	
	48	$1.3098+2.6857x$	23.660 (19.993–27.991)	
	72	$1.8548+2.7403x$	14.053 (11.920–16.568)	1.53
α-蒎烯 α-pinene	24	$1.4101+1.7535x$	111.50 (84.972–144.24)	
	48	$-0.3506+3.3688x$	38.751 (28.985–54.538)	
	72	$0.1005+3.3625x$	28.648 (25.049–32.764)	0.74
黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	24	$-0.1958+2.8584x$	65.725 (61.064–70.923)	
	48	$0.0259+3.3527x$	30.452 (26.614–34.843)	
	72	$0.9539+3.0399x$	21.429 (18.471–24.860)	1.00

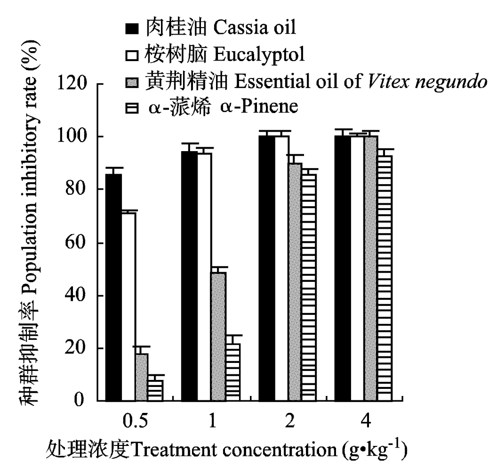


图 2　肉桂油和黄荆精油及其两种主要成分对玉米象种群的控制作用

Fig. 2　Control effect of cassia oil, the essential oil of *Vitex negundo* and its two main components on *Sitophilus zeamais* populations

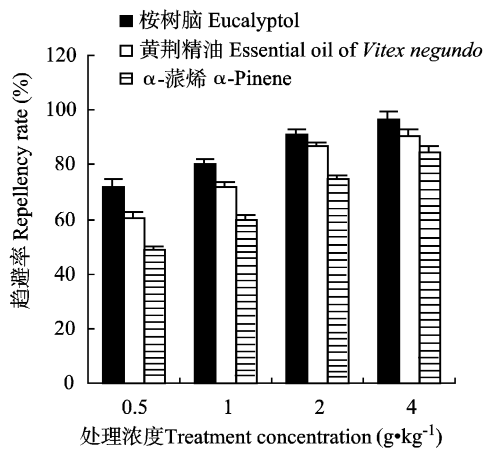


图 3　黄荆精油及其主要成分对玉米象成虫的驱避作用

Fig. 3　Deterring effects of the essential oil of *Vitex negundo* and its main components on *Sitophilus zeamais* adults

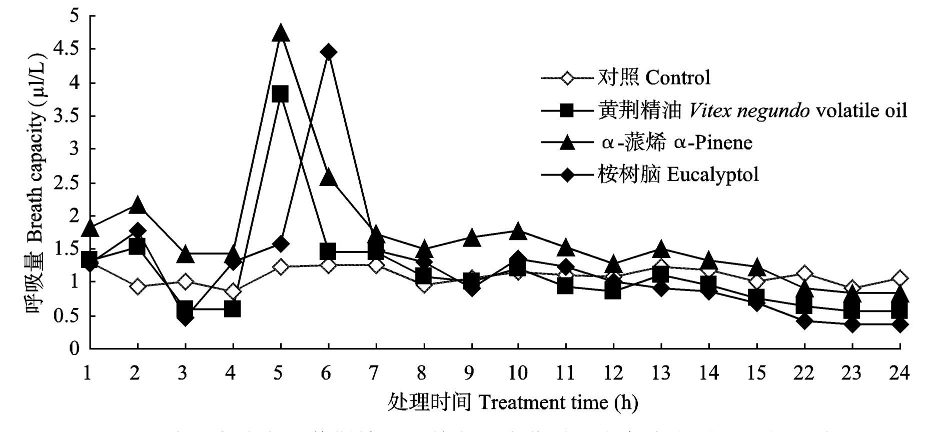


图 4　致死中浓度下黄荆精油及其主要成分对玉米象成虫呼吸量的影响

Fig. 4　The influence of the essential oil of *Vitex negundo* and its main components at the dosage of LC_{50} on the respiratory capacity of *Sitophilus zeamais* adults

2.3　对玉米象呼吸量的影响

分别用黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯 LC_{50}剂量处理玉米象成虫,处理后 1 ~24 h,3 个药剂对试虫呼吸量的影响趋势基本一致,分别在处理后 5 ~6 h 各出现一个呼吸高峰,其呼吸量分别是对照处理的 2.52, 2.95 和 3.12 倍;处理后 7 h,3 个药剂处理的呼吸量急剧下降至对照水平;处理后 16 h,3 个药剂处理的呼吸量渐低于对照(图 4)。黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯对玉米象都有干扰呼吸的作用,且其规律基本一致,说明黄荆精油及其两种主要成分对玉米象呼吸作用的影响机制相同。

2.4　对玉米象相关酶活性的影响

在离体条件下,黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯对玉米象的乙酰胆碱酯酶都有抑制作用,其中α-蒎烯的抑制毒力最大,其 IC_{50}为 2.8794 mg · mL^{-1},是黄荆精油 IC_{50}(4.4603 mg · mL^{-1})的 1.55 倍;桉树脑的抑制毒力最小,其 IC_{50}为 6.0473 mg · mL^{-1},仅达黄荆精油的 0.74 倍,由此看出,乙酰胆碱酯酶是黄荆精油及其两种主要成分的主要作用靶标之一,但不同成分的抑制毒力差异较大。黄荆精油和α-蒎烯对玉米象离体过氧化氢酶还有明显的抑制作用,IC_{50}分别为 2.6510 和 4.5511 mg · mL^{-1},而桉树脑的抑制毒力更低,IC_{50}为 61.349 mg · mL^{-1},仅是黄荆精油的 0.04 倍(表 4),表明两个已知成分对保护酶的抑制作用均不及黄荆精油。

黄荆精油、α-蒎烯和桉树脑对玉米象的羧酸酯酶也有一定抑制作用;在相同处理浓度下,α-蒎烯对羧酸酯酶的抑制率较高,黄荆精油和桉树脑对羧酸酯酶抑制率较低。由此说明黄荆精油及其两种主要成分也可影响玉米象体内羧酸酯酶的代谢(表 5)。

表 4　黄荆精油及其主要成分对玉米象成虫乙酰胆碱酯酶和过氧化氢酶的抑制作用

Table 4　Inhibitory effects of the essential oil of *Vitex negundo* and its main components on AChE and CAT activities of *Sitophilus zeamais* adults *in vitro*

酶源 Enzyme	抑制剂 Inhibitors	回归方程(y =) Regression equation	LC_{50}(95% confidence limit) (g · kg^{-1})	毒力倍数 Toxicity ratio
乙酰胆碱酯酶 AChE	黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	2.4539 +3.9209x	4.4603(3.9752 –5.0045)	1.00
	α-蒎烯 α-Pinene	3.5543 +3.1476x	2.8794(2.4946 –3.3235)	1.55
	桉树脑 Eucalyptol	2.8951 +2.6932x	6.0473(5.1140 –7.1509)	0.74
过氧化氢酶 CAT	黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	4.4599 +1.2756x	2.6510(1.8608 –3.7767)	1.00
	α-蒎烯 α-Pinene	3.5613 +2.1861x	4.5511(3.7018 –5.5952)	0.58
	桉树脑 Eucalyptol	2.9417 +1.1513x	61.349(41.458 –90.784)	0.04

表 5　黄荆挥发油及其主要成分对玉米象成虫羧酸酯酶的抑制作用

Table 5　Effects of the volatile oil of *Vitex negundo* and its main components α-pinene and eucalyptol on CarE activities of *Sitophilus zeamais* adults *in vitro*

抑制剂 Inhibitor	抑制剂浓度(mg · mL^{-1}) Concentration	羧酸酯酶比活力 CarE Specific activity (μmol · mg^{-1} · 30 min^{-1})	抑制率(%) Inhibitory rate
黄荆精油 Essential oil of *V. negundo*	2	4.07 ± 0.17	17.79 ± 0.28 c
	1	4.59 ± 0.09	7.30 ± 0.11 e
	0.5	4.89 ± 0.11	0.24 ± 0.02 f
	0	4.95 ± 0.16	–
α-蒎烯 α-Pinene	2	4.12 ± 0.12	26.01 ± 0.46 a
	1	4.17 ± 0.09	25.40 ± 0.34 a
	0.5	4.50 ± 0.07	19.24 ± 0.21 b
	0	5.57 ± 0.21	–
桉树脑 Eucalyptol	2.5	3.90 ± 0.17	9.69 ± 0.28 d
	1.25	3.94 ± 0.11	8.62 ± 0.30 d
	0.5	4.03 ± 0.13	6.54 ± 0.18 e
	0	4.31 ± 0.15	–

表中数据经 Duncan 氏新复极差检验,同列数据后不同字母表示在 0.05 水平差异显著。Data in the table were tested by Duncan's multiple range test, and those in the same column followed by different letters show significant difference at the 0.05 level.

3 讨论

植物精油是多成分组成的混合物,有些植物种类主要成分即是活性成分,许多微量成分起增效作用,多种成分协同作用于害虫,因作用机理复杂和作用靶标多样,故不易产生抗性(杨念婉和李艾莲,2007)。本研究表明,泰山黄荆叶片精油中成分中88.80%是萜烯类物质,其中石竹烯、桉树脑和α-蒎烯分别占35.97%, 8.21%和0.69%,另外还含有大牦牛儿烯D等。用同样的提取和成分分析方法,陈振峰等(1999)报道了采自秦岭洛阳的黄荆叶片精油的成分,99.14%是萜烯类物质,其中石竹烯、桉树脑和α-蒎烯的含量分别为33.01%, 13.30%和3.64%;还含有本研究中未检出的别-香树烯和β-法呢烯,但是未检测出大牦牛儿烯D,说明黄荆挥发油的成分和其含量差异与其叶片的采集地环境、采收季节等多种因素有关。我国野生黄荆分布广泛,生长环境差异极大,可能在开发利用价值上也有不同,值得进一步深入研究。

本研究证明黄荆精油及其主要成分桉树脑和α-蒎烯对玉米象成虫具有触杀、驱避和熏蒸活性,并对其种群繁殖有强烈的抑制作用,且持续时间长。黄福辉等(1988)报道了α-蒎烯对大部分储粮害虫都有熏杀作用和驱避作用;胡仕林等(1989)以桉叶油0.01%剂量熏蒸处理烟草甲老熟幼虫,24 h死亡率达100%,而桉树脑是桉叶油中的主要成分。说明黄荆精油及其主要成分桉树脑和α-蒎烯作为储粮害虫防护剂的开发价值大。Dayrit等(1995)报道了黄荆叶精油中的桉树脑对小菜蛾成虫有明显的杀卵作用;Krishnarajah等(1985)也证明β-蒎烯对麦蛾有驱避作用。黄荆精油中含量最高的石竹烯已作为抗菌物质开发(赵晨曦等,2006),桉树脑和α-蒎烯两种成分与黄荆精油对储粮害虫玉米象的毒力相比,其大小差异不很大,说明黄荆挥发油中还含有其他杀虫活性更高的成分,还有待于今后进一步分离鉴定。

试验证明,黄荆精油、桉树脑和α-蒎烯不仅对玉米象的呼吸产生严重影响,还对乙酰胆碱酯酶和过氧化氢酶的有较高的抑制作用,表明乙酰胆碱酯酶和过氧化氢酶都是黄荆精油单体的作用靶标,且有干扰其呼吸的作用。因桉树脑对玉米象的杀虫毒力大于α-蒎烯,而α-蒎烯对玉米象的乙酰胆碱酯酶和过氧化氢酶的毒力又大于桉树脑,说明桉树脑还存在其他作用靶标。过氧化氢酶是昆虫体内重要保护酶之一,黄荆精油和α-蒎烯对其的抑制毒力也很高,桉树脑的抑制毒力稍低,说明黄荆精油及其单体还可降低玉米象的免疫能力,削弱其抗逆性。由此说明,黄荆精油及其主要成分的杀虫机制具多样性,深入研究可望发现新的杀虫化合物,也可为为仿生合成提供核心活性基团。

黄荆在我国野生资源非常丰富,为落叶灌木,广泛分布于南方和北方,作为杀虫植物资源直接开发利用具有独特的资源优势,且不易和绿化产生矛盾,黄荆精油的杀虫谱较广,是非常具有开发潜力的植物杀虫资源。肉桂油已被证明是优良的储粮害虫防护剂,但肉桂仅适宜种植在我国南方,是常绿乔木,直接利用从资源上受到一定的限制。

参考文献(References)

Chance B, Machly AC, 1955. Assay of catalases and peroxidases. In: Colowick SP, Kaplan NO eds. Methods in Enzymology. Academic Press, New York. 764 – 775.

Chen ZF, Li YH, Chen XL, 1999. Study on chemical constituents of essential oil from *Vitex negundo* Linn. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 19(2): 354 – 356. [陈振峰, 李月华, 陈新露, 1999. 黄荆挥发油化学成分的研究. 西北植物学报, 19(2): 354 – 356]

Dayrit FM, Corazon M, Trono M, Morallo-Rejesus B, Maini H, 1995. Anti-pest compounds from the volatile oil of *Vitex negundo* Linn. *Philippine Journal of Science*, 124(1): 15 – 27.

Ellman GL, Courtney KD, Andres V Jr, Feather-stone RM, 1961. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2): 88 – 90.

Hu SL, Hua CP, Yang DJ, Zheng DQ, Tang CL, 1989. A study on mortality of maize weevil adults in unprocessed grain by essential oil aromatic plants fumigation. *Grain Storage*, 5(18): 45 – 51. [胡仕林, 华昌培, 杨德军, 郑登权, 唐昌禄, 1989. 植物精油在原粮中熏杀玉米象的研究. 粮食储藏, 5(18): 45 – 51]

Huang FH, Zheng JQ, Zhang LF, Ma TY, Chen YY, Xiao GQ, 1988. Research on the protection of stored grain from pest by α-pinene. *Grain Storage*, 17(1): 34 – 43. [黄福辉, 郑家铨, 张令夫, 马调源, 陈友元, 肖桂秋, 1988. α-蒎烯防治储粮害虫的研究. 粮食储藏, 17(1): 34 – 43]

Jilani G, Saxena RC, 1998. Repellent and feeding deterrent effects of turmeric oil, sweetflag oil, neem oil and a neem-based insecticide against lesser grain borer (Coleoptera: Bostrychidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 629 – 634.

Krishnarajah SR, Ganesalingam VK, Senanayake UM, 1985. Repellancy and toxicity of some plant oils and their terpene components to *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera, Gelechiidae). *Tropical Science*, 25(4): 249 – 252.

Lee BH, Choi WS, Lee SE, Park BS, 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection*, 20: 317 – 320.

Liao SC, Zeng T, Wei QX, 2006. Study on insecticidal activity of *Vitex negundo* extracts. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 22(6): 304 – 306. [廖世纯, 曾涛, 韦桥现, 2006. 黄荆提取物的杀虫生物活性研究. 中国农学通报, 22(6): 304 – 306]

Lü YL, Wang HX, 2002. Inhibition effect of *Vitex negundo* L. on microorganisms. *Chinese Wild Plant Resources*, 21(5): 41 – 43. [吕源玲, 王洪新, 2002. 黄荆叶提取液抑菌作用的研究. 中国野生植物资源, 21(5): 41 – 43]

Shen WD, Hamano K, Mukaiyama F, 1989. Effect of environmental temperature on the body temperature and respiratory intensity of silkworm *Bombyx mori* reared on artificial diet. *Acta Entomologica Sinica*, 12(1): 12 – 16. [沈卫德, 浜野国腾, 向山文雄, 1989. 环境温度对人工饲料育家蚕体温和呼吸量的影响. 昆虫学报, 12(1): 12 – 16]

Van Asperen K, 1962. A study of house fly esterase by means of a sensitive colorimetric method. *Journal of Insect Physiology*, 8: 401 – 406.

Wang GY, Zhou H, Zeng XF, 2006. Advances in the research and the development of plant essential oils. *Food Science and Technology*, 5: 11 – 14. [王广要,周虎, 曾晓峰, 2006. 植物精油应用研究进展. 食品科技, 5: 11 – 14]

Xu HH, Zhao SH, 1994. Studies on insecticidal activity of cassia oil and its toxic constituent analysis. *Journal of South China Agricultural University*, 15(1): 27 – 33. [徐汉虹, 赵善欢, 1994. 肉桂油的杀虫作用和有效成分分析. 华南农业大学学报, 15(1): 27 – 33]

Xu HH, Zhao SH, Zhu LF, 1993. Studies on inhibitory effects of essential oils on reproduction of stored-product Insects. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 8(2): 11 – 17. [徐汉虹, 赵善欢, 朱亮锋, 1993. 精油对储粮害虫种群的繁殖抑制作用研究. 中国粮油学报, 8(2): 11 – 17]

Xu HH, 2001. Insecticidal Plant and Botanical Insecticides. China Agriculture Press, Beijing. 107 – 133. [徐汉虹, 2001. 杀虫植物与植物性杀虫剂. 北京: 中国农业出版社. 107 – 133]

Yang NW, Li AL, 2007. Advances in the research of plant essential oils for pest control. *Plant Protection*, 33 (6): 16 – 21. [杨念婉, 李艾莲, 2007. 植物精油应用于害虫防治研究进展. 植物保护, 33(6): 16 – 21]

Yuan L, Xue M, Liu YQ, Wang HS, 2006. Toxicity and oviposition-deterrence of *Vitex negundo* extracts to *Plutella xylostella*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 17(4): 695 – 698. [袁林, 薛明, 刘雨晴, 王合生, 2006. 黄荆提取物对小菜蛾幼虫毒力及对成虫的产卵忌避作用. 应用生态学报, 17(4): 695 – 698]

Yuan L, Xue M, Xin J, Li CH, 2004. Toxicity of *Vitex negundo* extracts to several insect pests. *Pesticides*, 2(43): 70 – 72. [袁林, 薛明, 刑键, 李昌浩, 2004. 黄荆提取物对几种害虫的杀虫活性. 农药, 2(43): 70 – 72]

Zhang HY, Deng YX, Wang JJ, Liu H, 2004. Advances in the study of plant essential oils against stored-product insects. *Grain Storage*, 3: 7 – 12. [张海燕, 邓永学,王进军, 刘怀, 2004. 植物精油防治储粮害虫的研究进展. 粮食储藏, 3: 7 – 12]

Zhao CX, Liang YC, Li XN, 2006. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from clove. *Natural Product Research and Development*, 18: 381 – 385. [赵晨曦, 梁逸曾, 李晓宁, 2006. 丁香挥发油化学成分与抗菌活性研究. 天然产物研究与开发, 18: 381 – 385]

Zheng GM, Luo ZM, Chen DM, 1999. Studies on the antioxygenic composition of *Vitex negundo* L. *Journal of Guangdong University of Technology*, 16(2): 41 – 46. [郑公铭, 罗宗铭, 陈达美, 1999. 黄荆籽抗氧化成分研究. 广东工业大学学报, 16(2): 41 – 46]

（责任编辑：赵利辉）